УДК 615/619:616

Т.И. Глотова, Н.Р. Будулов, Ю.Г. Юшков, А.Г. Глотов
Государственное научное учреждение институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока Сибирского отделения Россельхозакадемии (г. Новосибирск), Прикаспийский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт (г. Махачкала)

ПРИМЕНЕНИЕ ИЗАТИЗОНА И СЕРОИЗАТИЗОНА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ВИРУСНЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ТЕЛЯТ

Введение

Одной из актуальных проблем современного животноводства являются массовые респираторные болезни телят, причиняющие значительный экономический ущерб. По мнению многих авторов [2-6], первопричиной возникновения пневмоний у 90% телят являются вирусы, которые, вызывая инфекционный процесс в макроорганизме, создают оптимальные условия для жизнедеятельности в нем бактерий, что приводит к осложнению вирусного заболевания.

К числу вирусов, имеющих наибольшее значение в патологии органов дыхания у телят, относят: вирус инфекционного ринотрахеита (ИРТ), вирусной диареи-болезни слизистых (ВД-БС), парагриппа-3 (ПГ-3) крупного рогатого скота (КРС) и респираторно-синцитиальной инфекции. В инфекционном процессе могут участвовать также адено- и коронавирусы КРС. Вовлечение возбудителей этих болезней в полиэтиологический комплекс респираторных болезней приводит к значительному усилению тяжести их течения, поскольку вирусы, обладая иммуносупрессивным свойством, могут потенциировать течение многих респираторных болезней телят.

В связи с этим поиск эффективных противовирусных препаратов является актуальным в настоящее время.

В ветеринарии известен препарат метисазон (тиосемикарбазон N-метилизатина), обладающий выраженным противовирусным действием в отношении 40 вирусов, основанном на подавлении синтеза белков, идущих на построение вирусной оболочки. Метизсазон не оказывает угнетающего действия на продукцию специфических антител [1].

Целью исследований являлось изучение профилактической активности двух форм изатизона в отношении некоторых вирусов, участвующих в этиологии смешанных респираторных болезней телят, в условиях in vitro и in vivo.

Материалы и методы исследований

Вирусы и культуры клеток. В опытах in vitro использовали вирусы: ИРТ (штамм ТК-А) и ВД-БС КРС (штамм ВК-1), полученные из ВИЭВ им. Я.Р. Коваленко. Их инфекционную активность определяли в чувствительных перевиваемых линиях культур клеток почки теленка (MDBK) и коронарных сосудов плода коровы (КСТ). В качестве ростовой среды использовали питательную среду Игла МЕМ с однократным и двойным набором аминокислот и витаминов с добавлением 5–10% сыворотки плодов коровы «HyClone», тестированной на наличие вирусов ИРТ и ВД-БС КРС и антител к ним, 0,06% L-глутамина, 100 мкг/мл канамицина. Клетки культивировали при 37° С и 5% CO_2. В качестве поддерживающей среды использовали ту же среду без сыворотки.

Препараты. Применяли изатизон и сероизатизон, состоящий из изатизона и поливалентной гипериммунной сыворотки против вирусов: инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи-болезни слизистых, парагриппа-3, аденовирусной инфекции крупного рогатого скота, полученной путем гипериммунизации быков-продуцентов в возрасте 1,6-2 лет.

Определение цитотоксичности препарата. Цитотоксичность изатизона оценивали путем добавления его разведений в среде ИГЛА МЕМ к монослою клеточной культуры МДВК, выращенной микрометодом в 96-луночном планшете (Costar), до конечных концентраций 5-2000 мкг/мл (по три лунки на каждую дозу) с последующим культивированием при 37° С в CO_2-инкубаторе в течение 5 суток.

Контролем служили клетки без добавления исследуемого препарата. Жизнеспособность клеток оценивали после окрашивания 1% раствором трипанового синего, приготовленного на фосфатном буфере pH 7,2-7,3. Через 5 минут внесения краски подсчитывали количество живых (неок-

рашенных) и мертвых (окрашенных в голубой цвет) клеток в камере Горяева и по формуле определяли количество клеток в 1 мл, учитывая кратность разведения клеточной суспензии раствором краски. Токсичность различных доз соединений определяли по жизнеспособности клеток относительно контроля.

Определение противовирусной активности. Монослой культуры клеток заражали вирусами ИРТ и ВД-БС КРС в дозе не менее 1 ТЦД/кл, через 1,5 часа после этого их отмывали питательной средой без сыворотки и вносили препарат в эффективной дозе или разводящую среду (контроль). Через 72 часа культивирования вируса в таких биосистемах культуральную жидкость титровали. Противовирусный эффект препаратов рассчитывали по соотношениям инфекционных активностей вирусов в опытных и контрольных образцах. В каждом опыте проводили дополнительный контроль на токсичность испытуемой дозы препаратов.

Титрование вирусов. Определение инфекционной активности вирусов проводили микрометодом в 96-луночных культуральных планшетах (Costar) с культурами клеток с использованием не менее 4 параллельных рядов и выражали в $ТЦД_{50/мл}$ (50%-я тканевая цитопатическая доза). Все опыты проводили в трехкратной повторности. Статистическую обработку проводили общепринятыми методами, оценивая доверительный интервал для 95%-й вероятности.

Определение вирулицидного действия препаратов. К 1 мл вирусной суспензии с известной инфекционной активностью добавляли препарат в 50%-ной ингибирующей дозе, инкубировали 30, 60 и 90 минут при температуре 37° С, затем титровали. Контролем служил вирус без препарата. Вирулицидный эффект у препаратов оценивали по соотношениям инфекционных активностей вирусов в опытных и контрольных образцах.

Определение профилактической эффективности изатизона in vivo. Использовали телят с клиническими симптомами острых вирусных респираторных заболеваний, этиология которых подтверждалась результатами вирусологических исследований носовых выделений и парных проб сыворотки крови. Всего использовали 50 телят 1-3-месячного возраста, 30 (контроль), 20 (опыт).

Телят опытной группы обрабатывали изатизоном в аэрозольных камерах при помощи генератора САГ-1 во время комплектования групп двукратно с интервалом 24 часа. Дозу препарата рассчитывали по формуле: Д = Т×С×V, где Д – доза препарата в мг; С – концентрация препарата в мг/л.; Т – время пребывания животных в аэрозоле, мин.; V – дыхательная емкость легких (л/мин.).

Определение лечебной эффективности. С этой целью проводили аэрозольную обработку 25 телят в период развития у них клинических признаков вирусных респираторных заболеваний: повышение температуры тела, кашель, хрипы, истечения из носа серозно-гнойного характера. Обработку проводили по схеме: двукратно в течение двух суток. Дозу препарата рассчитывали по той же формуле. 25 больных телят служили контролем. Наблюдение за животными проводили в течение 17 суток с ежедневным клиническим осмотром и измерением температуры тела.

Для определения эффективной концентрации изатизона комплексный препарат с различным содержанием его (10, 15, 20 и 25%) распыляли трехкратно с интервалом 12-14 суток, в дозе 5 мл/м^3, при экспозиции 50 мин, аэрозольным методом. Контрольных животных обрабатывали таким же способом гипериммунной сывороткой без препарата.

Профилактическую эффективность комплексного препарата сероизатизон изучали с использованием экспериментального заражения серонегативных к вирусам телят 2-3-месячного возраста. Телят опытной группы, в количестве 9 голов, по истечении 24 часов после подкожного и интраназального введения сероизатизона заражали вирулентными штаммами вирусов: ПГ-3, ИРТ и аденовирусной инфекции КРС.

Производственные испытания профилактической эффективности сероизатизона проводили в условиях молочного животноводческого комплекса, неблагополучного по респираторным заболеваниям телят. Использовали опытных животных 1,5-2-месячного возраста в количестве 45 голов перед переводом в группу доращивания, затем на 14, 28 и 42 сутки после этого обрабатывали комплексным препаратом. Контрольным телятам (45 голов) вводили по той же схеме гипериммунную сыворотку. За животными вели клинические наблюдения на протяжении трех месяцев.

Статистическую обработку полученных данных проводили общепринятыми методами.

Результаты исследований

В исследованиях «in vitro» установили, что изатизон в дозе 50 мкг/мл оказался нетоксичным для культур клеток и обладал профилактическим действием при заражении их вирусами ИРТ и ВД-БС КРС. Внесение препарата за 16 и 24 часов до заражения культуры клеток приводило к статистически достоверному снижению инфекционной активности вирусов (до 2 и более lg ТЦД$_{50/мл}$.), однако вирулицидная активность препарата не установлена.

При оценке вирусостатического действия препарата определили, что он в значительной степени подавлял инфекционную активность тестируемых вирусов. Во всех случаях снижение их титра было достоверным (более 2 lg ТЦД$_{50/мл}$.), однако активность изатизона была значительно выше при внесении через 1,5 и 3 часа после заражения культуры клеток.

Профилактическая обработка телят аэрозолем изатизона в период формирования групп позволила снизить заболеваемость на 28% в сравнении с контролем. Однако лечебной эффективности препарат при данной схеме применения не проявил.

В дальнейшем провели исследования с целью выявления эффективной концентрации изатизона в комплексном препарате сероизатизон, которая составила 15%. Профилактическая эффективность сероизатизона с такой концентрацией в нем изатизона у опытных телят была выше на 14,8% по сравнению с контрольными животными. Включение гипериммунной сыворотки в состав комплексного препарата сероизатизон увеличило его профилактическую эффективность при респираторных заболеваниях у телят на 2,7% в сравнении с изатизоном.

В результате исследований, проведенных на телятах, экспериментально инфицированных вирулентными штаммами вирусов, установили, что введение сероизатизона за 24 часа до инфицирования вирусов ИРТ, ПГ-3 и аденовирусной инфекции КРС предотвращало развитие клинических признаков респираторных заболеваний у всех животных. У контрольных телят на 2 сутки после заражения регистрировали повышение температуры тела до 39,9-40,5° и угнетение; на 3-4 сутки – отказ от корма, конъюнктивиты и риниты. На 7 сутки – хрипы в легких. Продолжительность заболевания у животных составила 10-12 суток.

Профилактическая обработка телят сероизатизоном в условиях животноводческого комплекса, неблагополучного по ПГ-3 и ИРТ КРС, проведенная в течение трех месяцев на телятах 1,5-2-месячного возраста привела к снижению заболеваемости опытных животных в 3 раза в сравнении с контрольными. В опытной группе заболеваемость составила 4,4%, а в контрольной – 13,3%.

Применение комплексного препарата в условиях молочного животноводческого комплекса в день перевода телят в группу доращивания и на 14, 28 и 42 сутки после него, снизило заболеваемость телят респираторными инфекциями на 28%, вынужденный убой – в 5,8 раза в сравнении с контрольными животными. Применение препарата снижало остроту и сокращало сроки проявления клинических признаков респираторных заболеваний у телят.

Производственные испытания препарата, проведенные в условиях откормочного животноводческого комплекса, неблагополучного по респираторным болезням телят, с использованием аэрозольного способа введения препарата при помощи генератора САГ-1, подключенного к компрессору СО-7А, подтвердили высокую его профилактическую эффективность при респираторных заболеваниях у телят. В результате этих исследований установили, что аэрозольная обработка телят в течение 50-60 минут, проведенная в первый день после комплектования групп доращивания и повторно через 14 и 28 дней, снижает заболеваемость опытных животных на 40,6% в сравнении с контрольными телятами. В опытной группе заболело 11,4%, а в контрольной 52% животных. Применение препарата по данной схеме предотвращало падеж опытных телят, в то время как в контрольной группе животных он составил 9,3%.

Таким образом, применение препарата сероизатизон позволяет снизить заболеваемость и предотвратить гибель телят от респираторных заболеваний.

Выводы

Проведенные исследования показали, что изатизон обладает выраженной профилактической и противовирусной активностью в опытах in vitro в культурах клеток, а также высокой профилактической эффективностью при аэрозольной обработке телят в животноводческих помещениях.

Применение данного препарата для профилактики респираторных заболеваний у телят позволяет повысить экономическую эффективность лечебно-профилактических мероприятий за счет предотвращения развития заболевания в 1,7 раз

и сохранность молодняка на 15-32,9%.

Включение гипериммунной сыворотки в состав комплексного препарата сероизатизон увеличивает его профилактическую эффективность при респираторных заболеваниях у телят на 2,7% в сравнении с изатизоном.

Препараты изатизон и сероизатизон можно применять в крупных животноводческих хозяйствах для профилактики респираторных заболеваний телят во время комплектования поголовья.

РЕЗЮМЕ

В статье приведены результаты изучения профилактической активности изатизона in vitro в культуре клеток и изатизона и сероизатизона in vivo на телятах в условиях животноводческих комплексов.

SUMMARY

The results of study of antiviral activity of izatison in vitro in cell culture and both definition of preventive and thaeropeutical efficiency of izatison and seroizatison in experiences in vivo with use calves on big farms.

Литература

1. Бессарабов Б.Ф. Влияние изатизона на естественную резистентность организма животных /Б.Ф. Бессарабов и др.// Ветеринария. 1994. №5. С. 50-51.
2. Гулюкин М.И. Система ветеринарно-санитарных, профилактических и лечебных мероприятий против инфекционных болезней крупного рогатого скота в хозяйствах российской Федерации/ М.И. Гулюкин, К.П. Юров, Ю.Д. Караваев и др. М., 2007. 14 с.
3. Крюков Н.Н. Инфекционный ринотрахеит пустулёзный вульвовагинит крупного рогатого скота // Итоги науки и техники/ Животноводство и ветеринария. М., 1980. С. 32-113.
4. Юров К.П. Распространение инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи-болезни слизистых оболочек крупного рогатого скота в различных регионах России /К.П. Юров, А.Ф. Шуляк, О.Г. Петрова, О.В. Майджи// Тр. ВИЭВ. М. 2003. Т.73. С. 15-22.
5. Babiuk L.A. Immunology of bovine herpesvirus 1 infection / L.A. Babiuk, S. Van Drunen Littel-van den Hurk, S.K. Tikoo // Vet. Microbiol. 1996. Vol. 53, № 1-2. P. 31-42.
6. Jericho K.W. Experimental infectious respiratory disease in groups of calves: lobar distribution, variance, and sample-size requirements for vaccine evaluation / K.W. Jericho, G.C. Kozub // Can. J. Vet. Res. 2004. Vol.68, №2. P. 118-127.

УДК 612.017.1:576.3

И.Ю. Ездакова, О.М. Чуйко, Е.О. Чадина

Всероссийский институт экспериментальной ветеринарии РАСХН им. Я.Р.Коваленко

ДИНАМИКА РОЗЕТКООБРАЗУЮЩИХ КЛЕТОК КУР В ОНТОГЕНЕЗЕ

Интенсификация промышленного птицеводства и неблагоприятная экологическая обстановка приводят к нарушению иммунной реактивности организма, снижению эффективности вакцинопрофилактики. В связи с этим, исследования, направленные на понимание механизмов формирования иммунной системы птиц и прогнозирование устойчивости к инфекционным заболеваниям, имеют большое значение для повышения рентабельности отрасли.

Как известно, иммунная система птиц состоит из центральных и периферических лимфоидных органов. К центральным относятся тимус и бурса Фабрициуса. На раннем этапе эмбриогенеза фабрициева сумка играет первостепенную роль в антителогенезе. Для больших лимфоцитов бурсы характерен достаточно развитый аппарат Гольджи и эндоплазматический ретикулум. Тимус отличается от этого первичного лимфоидного органа млекопитающих многодольчатой структурой. Размеры тимоцитов кур меньше лимфоцитов фабрициевой сумки. Селезенка и костный мозг относятся к периферическим лимфоидным органам у птиц. В филогенезе впервые у птиц появляются зародышевые центры в селезенке, где происходит дифференцировка лимфоцитов из стволовых клеток (Э.Купер,1980). Костный мозг, аналогично млекопитающим, служит местом формирования клеток крови. Таким образом, количественная динамика клеток лимфоидных органов является важной характеристикой иммунной реактивности организма птиц.

Цель наших исследований - количественная характеристика розеткообразу-